

## PRODUKSI BIOETANOL DARI BONGGOL JAGUNG MELALUI PROSES HIDROLISA SELULOSA SECARA ENZYMATIS MENGGUNAKAN TRICHORDEMA REESEI

**I. Riwayati**

e-mail: riway79@yahoo.com

**I. Hartati**

e-mail: indah\_hartati@yahoo.com

**L. Kurniasari**

e-mail: laeli\_kurniasari@yahoo.co.id

**R. D. Ratnani**

e-mail: Ratnani\_unwahas@yahoo.com

Laboratorium Proses Kimia  
Jurusan Teknik Kimia  
Fakultas Teknik  
Universitas Wahid Hasyim  
Semarang  
Jl Menoreh Tengah X/22  
Semarang

Penggunaan bahan bakar dari fosil meningkatkan jumlah karbondioksida diudara yang pada akhirnya dapat meningkatkan suhu dipermukaan bumi . Disamping itu ketersediaan bahan bakar fosil yang tidak dapat diperbaharui menyebabkan dicarinya alternative bahan bakar yang lebih ramah lingkungan dan dapat diperbaharui . Salah satu bahan bakar tersebut adalah bioetanol . Bioetanol dapat dibuat dari berbagai sumber bahan baku . Secara garis besar bahan baku bioetanol dapat diperoleh dari bagian-bagian tumbuhan ,salah satunya adalah biomasa berselulosa seperti bonggol jagung . Bonggol jagung sampai saat ini menjadi limbah pertanian dan dipergunakan hanya sebagai bahan bakar untuk pemanfaatannya. Bonggol jagung ini mengandung selulosa yang merupakan suatu bentuk karbohidrat komplek . Untuk dapat difermentasikan menjadi etanol, maka selulosa ini harus dipecah terlebih dulu menjadi karbohidrat sederhana yang disebut glukosa . Proses pemecahan ini disebut sebagai hidrolisa . Hidrolisa dapat dilakukan dengan cara kimia ataupun enzimatis. Pada percobaan ini dilakukan pemecahan selulosa yang ada pada bonggol jagung dengan enzim selulase yang dihasilkan dari *Trichordema reseei*. Tahap pertama dari percobaan adalah menentukan variabel yang berpengaruh dalam proses dan tahap selanjutnya adalah melakukan optimasi terhadap variabel berpengaruh yang diperoleh dari tahap pertama percobaan. Dari hasil percobaan tahap pertama diperoleh variabel yang berpengaruh adalah pH dan rasio substrat-enzim . Sedangkan hasil optimasi pada percobaan selanjutnya diperoleh kondisi optimum dari percobaan adalah pada pH = 4 dan rasio substrat-enzim = 1 : 1,5 dengan kadar glukosa sebesar 18,001 %.

**Kata Kunci** : Bonggol jagung , hidrolisa enzimatis , *Trichordema reseei*

### Pendahuluan

Saat ini etanol diproduksi dari tetes tebu maupun dari jagung. Biomassa berselulosa merupakan sumber daya alam yang berlimpah dan murah yang memiliki potensi mendukung produksi komersial industri bahan bakar seperti etanol dan butanol.

Biomassa berselulosa diantaranya diperoleh dari limbah pertanian, limbah perkebunan, limbah kehutanan, limbah padat kertas dan beberapa limbah industri. Penelitian mengenai hidrolisa biomassa secara enzimatis telah dilakukan oleh beberapa peneliti, diantaranya hidrolisa berbahan baku limbah kayu softwood (Wamgren, 2003), jerami gandum (Shmidt, 1998) dan pinus (Manzanares, 2003). **Yield yang diperoleh dari hidrolisa biomassa terutama dipengaruhi oleh jenis bahan baku (Palonen, 2004).**

Perbandingan komposisi kimia beberapa biomassa disajikan pada Tabel 1 berikut.

**Tabel 1. Komposisi kimia berbagai biomassa**

Biomassa	Selulosa(% b/b)	Lignin (% b/b)
Kayu spruce	41.9	27.1
Kayu poplar	49.9	18.1
Kayu pine	37.7	27.5
Jerami gandum	38.2	23.4
<b>Bonggol jagung</b>	<b>36.4</b>	<b>16.6</b>
Switchgrass	31.0	17.6

Biomassa berselulosa terbentuk dari tiga komponen utama yakni selulosa, hemiselulosa dan lignin. Beberapa varietas fungi dan bakteri dapat mendegradasi lignoselulosa dengan memanfaatkan enzyme oksidatif dan enzim hidrolitik (Erikson dkk, 1990). Selulosa merupakan komponen utama yang terkandung dalam dinding sel tumbuhan dan mendominasi hingga 50% berat kering tumbuhan.

Dilute Acid Hydrolysis (DAH) merupakan teknologi tertua yang digunakan untuk menghidrolisa selulosa. Proses DAH melibatkan larutan asam sulfat 1% dalam reaktor kontinyu yang beroperasi pada suhu tinggi, 250°C. Konversi dari proses tersebut hanya 50 %. Concentrated Acid Hydrolysis menggunakan asam sulfat konsentrat dan dilanjutkan dengan pelarutan dalam air untuk melarutkan dan menghidrolisa selulosa menjadi gula. Proses Saccharifikasi biomassa berselulosa menggunakan asam pada suhu tinggi maupun suhu rendah telah lama dipelajari dan dilakukan oleh beberapa peneliti (Bjerr dkk, 1996; Grohmann, 1985).

Hidrolisa selulosa secara enzimatik memiliki potensi untuk meningkatkan efisiensi, konversi dan produktifitas. Hidrolisa selulosa secara enzimatik memiliki beberapa keuntungan, yakni:

1. Konversi lebih tinggi
2. Menghasilkan produk samping yang minimal
3. Kebutuhan energi lebih rendah
4. Kondisi operasi yang lebih rendah

Degradasi enzimatik biomassa berselulosa melibatkan beberapa enzim yang berbeda. Enzim yang disekresi dari filamentous fungi *Trichordema reesei* dapat mengkonversi biomassa menjadi gula (Hayn, 1993).

### Perumusan Masalah

Hidrolisa selulosa secara enzimatik dipengaruhi beberapa variabel yakni rasio enzim-substrat, rasio bonggol jagung-air, temperatur, pH reaksi dan waktu reaksi. Dengan menggunakan metode factorial design, variabel yang paling berpengaruh terhadap proses hidrolisa dapat diketahui, sehingga setelah variabel berpengaruh diketahui. Optimasi terhadap variabel proses dapat dilakukan untuk mendapatkan kondisi optimum proses. Proses pretreatment terhadap biomassa akan dijadikan tetapan yakni proses *hot water*.

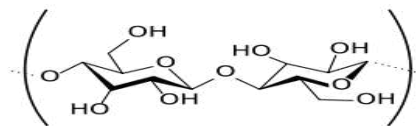
### Tinjauan Pustaka

Komposisi kimia bonggol jagung dibedakan menjadi dua yakni karbohidrat dan komponen non karbohidrat. Selulosa merupakan komponen utama pada sel tumbuhan yang mendominasi sekitar 36% berat kering bonggol jagung.

### Selulosa

Selulosa seringkali diasosiasikan dengan hemiselulosa dan lignin. Isolasi selulosa memerlukan perlakuan kimiawi yang intensif dan spesifik. Selulosa terdiri dari unit-unit monomer D-glucopyranose yang terikat oleh ikatan B-1-4 glukosidik. *The successive*

*glucose residues are rotated by 180 relative to each other*, sehingga unit berulang pada rantai selulosa merupakan unit sellobiose. Derajat polimerisasi (DP) rata-rata selulosa pada tumbuh-tumbuhan bervariasi antara 7000-15000 unit glukosa, tergantung pada sumber biomasanya (Fengel and Wegener, 1983).



Gambar 1. Struktur Kimia Selulosa

### Selulosa

Secara alami, beberapa macam mikroorganisme dan mekanisme enzimatik terlibat dalam degradasi lignoselulosa yang sempurna. Struktur dari lignoselulosa menghambat degradasi baik secara enzimatik maupun secara kimia. Bahkan dalam hidrolisa selulosa murni secara enzimatik terjadi penurunan laju hidrolisa. Penurunan laju hidrolisa tersebut disebabkan karena inhibisi produk akhir, deplesi oleh bagian yang dapat terdegradasi, inaktivasi enzim dan terjebanya selulases dalam pori-pori selulosa (Valjamae, 2002).

### Hidrolisa Enzimatik oleh *Trichordema reesei*

*Trichordema reesei* merupakan suatu filamenteus fungi yang dapat mendegradasi material dari tumbuhan dalam lingkungan alamnya. Enzim hidrolitik dari *Trichordema reesei* dapat dengan efisien mendegradasi selulosa dan hemiselulosa menjadi gula sederhana.

### Metode Penelitian

#### Bahan

Bahan utama untuk penelitian berupa bonggol jagung diperoleh dari area penghasil jagung di Kecamatan Gunungpati. Bahan-bahan kimia untuk keperluan analisa diperoleh dari PT. Bratachem Semarang. Bahan-bahan kimia tersebut adalah:

1. Buffer acetate
2. *Trichordema reesei*
3. Cellulase
4. Bovin serum albumin
5. Benedict reagent
6. Demin Water
7. Asam Sulfat

#### Alat

Beberapa alat yang digunakan untuk percobaan dan sebagai pendukung terutama untuk keperluan analisa adalah:

1. Fluidised Sand Bath Reactor
2. Digester
3. Buret, dengan volume 10 ml dan skala 0,02
4. Piknometer, dengan volume 5 ml
5. Erlenmeyer, dengan volume 250 ml
6. Pipet volum, dengan volume 10 ml
7. Beaker glass, dengan volume 500 ml dan 100 ml
8. Gelas ukur, dengan volume 10 ml, skala 0,01 dan volume 25, skala 0,1
9. Orbital Shaker bath

## Tahapan Penelitian

### Tahap I. Penentuan Variabel Berpengaruh

#### Variabel Percobaan

Variabel-variabel percobaan dalam reaksi hidrolisa selulosa secara enzimatik adalah rasio enzim-substrat, rasio bonggol jagung-air, pH reaksi dan waktu reaksi. Batas atas dan batas bawah untuk masing-masing variabel disajikan pada Tabel 4.

Adapun tetapan pada percobaan pertama adalah:

Konsentrasi larutan sulfat	= 1%
Volume buffer	= 50 ml
Suhu pretreatment	= 140°C
Waktu pretreatment	= 40 menit
Waktu preinkubasi	= 10 menit

#### Prosedur Percobaan

Bonggol jagung dihancurkan dan digiling kemudian direndam dalam larutan asam sulfat 1% selama satu malam dengan konsentrasi 5% berat. Slurry hasil perendaman kemudian dimasukkan kedalam fluidised sand bath reaktor dan dipanaskan hingga 140°C selama 40 menit. Slurry hasil pretreatment dihidrolisa dengan rasio enzim-substrat, dan konsentrasi padatan sesuai variabel dalam 50 ml larutan buffer acetate. Larutan di preinkubasi pada suhu 50°C didalam air menggunakan orbital shaker bath pada 150 rpm selama 10 menit. Enzim ditambahkan untuk memulai reaksi hidrolisis segera setelah proses aklimatisasi. Sampel diambil untuk dianalisa kadar glukosanya setiap 6 jam sekali. Rancangan proses hidrolisa enzimatik bonggol jagung disajikan pada gambar 4.

#### Rancangan Riset

Percobaan direncanakan dengan menggunakan faktorial design dengan ulangan 2 kali.

### Tahap II Optimasi Parameter Proses

Tetapan pada proses optimasi sama dengan tetapan pada penentuan variabel berpengaruh ditambah dengan parameter proses selain variabel yang paling berpengaruh. Optimasi parameter proses

akan dilakukan terhadap variabel paling berpengaruh. Variabel percobaan diperoleh dengan membuat interval terhadap variabel paling berpengaruh yang telah ditentukan dari tahap penentuan variabel berpengaruh.

## Hasil Dan Pembahasan

### Tahap Pertama ( Mencari Faktor yang Berpengaruh Terhadap Percobaan )

Pada percobaan tahap yang pertama ini dilakukan dengan enam belas ( 16 ) buah running dan variabel empat jenis variabel yang mungkin berpengaruh dalam percobaan serta dengan memberikan suatu batas bawah dan batas atas dari masing-masing variabel. Keempat jenis variabel serta batas atas dan bawah yang digunakan dalam percobaan dapat dilihat dari tabel berikut :

Dari percobaan diperoleh data hasil kadar glukosa (%) untuk masing-masing tempuhan . kemudian dilakukan analisa normal probability plot, setelah dilakukan perhitungan main efek dan perhitungan interaksi. . Dari respon yang diperoleh dari perhitungan tersebut dianalisa nilai yang paling signifikan merupakan variabel yang paling berpengaruh terhadap percobaan A , adalah variabel rasio enzim –substrat ; B : variabel rasio limbah jagung-air ; C : variabel pH ; dan D : variabel waktu . Dari tabel hasil analisa respon terhadap variabel dapat dilihat bahwa variabel AC mempunyai nilai yang paling signifikan sebesar 2,02225 . Dengan demikian dapat diambil suatu kesimpulan bahwa variabel A ( rasio enzim-substrat ) dan variabel C ( pH ) , merupakan faktor yang paling berpengaruh dalam percobaan ini.

### Tahap Kedua ( Optimasi dari Variabel yang Berpengaruh pada Percobaan )

**Tabel 2. Hasil Optimasi pada Variabel yang Berpengaruh**

Run	rasio substart - enzim	pH	Kadar Glukosa %
1	1 : 1	pH=4.	15.294
2	1 : 1,25	pH=4.	16.664
3	1 : 1,50	pH=4.	18.001
4	1 : 1,75	pH=4.	18.076

Run	rasio substrat - enzim	pH	Kadar Glukosa %
5	1 : 1	pH=5	14.158
6	1 : 1,25	pH=5	13.425
7	1 : 1,50	pH=5	15.134
8	1 : 1,75	pH=5	15.420

Tahap kedua dari percobaan adalah dengan melakukan optimasi terhadap dua jenis variabel yang berpengaruh hasil analisa dari tahap pertama . Percobaan tahap dua ini dilakukan dengan delapan ( 8 ) tempuhan dengan variabel rasio enzim-substrat = 1: 1 ; 1: 1,25 ; 1: 50 dan 1 : 1,75 . Hasil kadar glukosa pada masing-masing tempuhan dapat dilihat pada tabel berikut :

Dari tabel dapat dilihat untuk variabel pH = 4 , prosentase glukosa yang diperoleh semakin tinggi dengan semakin tingginya rasio enzim-substrat yang dipergunakan dalam percobaan . tetapi untuk perubahan rasio enzim-substrat dari 1 : 1,50 dan 1 : 1,75 menunjukan hasil kenaikan prosentase glukosa yang sangat sedikit . Prosentase kadar glukosa maksimum untuk pH = 4 diperoleh dengan rasio enzim-substrat sebesar 1 : 1,75 sebesar 18,076 %.

Untuk pH =5 , dan rasio enzim-substrat sama dengan yang dipergunakan pada pH = 4 menunjukan kecenderungan yang sama juga . Semakin tinggi rasio enzim-substrat yang dipergunakan , maka akan semakin tinggi pula prosentase hasil yang diperoleh . Pada pH = 5 , prosentase maksimum diperoleh dengan rasio enzim-substrat = 1 : 1,75 dengan hasil glukosa sebesar 15,420 %.

Dari variabel pH dan rasio enzim-substrat dapat diperoleh kondisi optimum untuk percobaan ini adalah pada pH = 4 dan rasio enzim-substrat = 1 : 1,5 . Pada rasio enzim-substrat yang lebih tinggi dari ini menunjukan kenaikan prosentase kadar glukosa yang tidak banyak , sehingga dapat ditentukan bahwa penambahan rasio yang lebih tinggi lagi tidak akan banyak menaikkan hasil .Oleh karena itu kondisi optimum adalah pada pH = 4 dan rasio enzim-substrat = 1 : 1,5.

### Kesimpulan

Dari hasil percobaan dan pembahasan didepan dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Berdasarkan percobaan pada tahap I , diperoleh hasil bahwa variabel yang berpengaruh terhadap percobaan adalah variabel pH dan rasio enzim-substrat .
2. Percobaan pada tahap II , dilakukan optimasi terhadap variabel pH dan rasio enzim-substrat diperoleh kondisi optimum untuk proses hidrolisa adalah pada pH = 4 dan rasio enzim-substrat = 1 : 1, 5 dengan kadar glukosa yang diperoleh sebesar 18, 001.

### Saran

Berdasarkan kesimpulan yang diperoleh , maka untuk melakukan proses hidrolisa bonggol jagung harus benar-benar dikontrol variabel pH dan rasio substrat –enzim serta kondisi optimum pada pH = dan rasio substrat –enzimnya.

### Daftar Pustaka

- Bjerre AB, Olesen AB, 1996, Pretreatment of Wheat Straw Using Combined Wet Oxidation and Alkaline Hydrolysis Resulting in Convertible Cellulose and Hemicellulose, *Biotechnol Bioeng* 49
- Bin yang, Wyman. E, 2005, " BSA Treatment to Enhance Enzymatic Hydrolysis of Cellulose in Lignin Containing Substrat" *Biotechnology and Bioengineering Journal* Vol 94 No 4 jully Willey Interscience
- Erickson K, 1990" Microbial and Enzymatic Degradation of Wood" Springer Berlin
- Glasneer David, 1999, " Corn Stover Potential" ASHS Press, Alexandria ,VA
- Grohman K, Torget R, 1985, 'Optimization of Dilute Acid Pretreatment of Biomass", *Biotechnol.Bioeng.*15
- Hayn,M., Steiner W.,1993 ," Basic Research and Pilot Studies on the Enzymatic Conversion of Lignocellulosic", Bioconversion of Forest and Agricultural Plant Residues, Wallington, UK.
- Johanessen R, 1991, "Energy Efficiency and Environmental News Alcohol Production from Biomass" , Florida Energy Extension news
- Ladish, M.R, Zeng M, 2005," Microscopic Examination of Changes of Plant Cell Structure in Lignocellulosic Material Due to Hot Water Treatment and Enzymatic Hydrolysis"

- Lynd L.R., 1996, "Overview and Evaluation of fuel Ethanol from Cellulosic biomass" *Annu Rev energy Environment*
- Media Pertanian; 2003, " Pengembangan Jagung Hibrida Terbuka Lebar", Situs Hijau Media Pertanian Online.
- Palonen,H.,Tjerneld,F.,2004, Adsorbtion of purified Trichordema reseei cellulases and their catalytic domain to steam pretreatment softwood and isolated lignin, *J Biotechnology* 107
- Schmidt AS,1998, "Optimization of Wet Oxidation Pretreatment of Wheat Straw" *Biores.Technol* .
- Wingren A, Galbe M., 2003 " Techno Evaluation of Producing Etanol From Softwood" *Biotechnol Journal*.
- Wyman CE,2002, "Potential Synergies and Challenges in Refining Cellulosic Biomass to Fuels" *Biotechnol Progress*.
- Zanin,G.M., 2005, "Determination of Inhibition in the Enzymatic Hydrolysis of Cellobiose Using Hybrid Neural Modelling" *Brazillian Journal of Chemical Engineering Vol 22*